第35卷 第2期 昆 虫 学 报 Vol. 35, No. 2
1992年5月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA May, 1992

小地老虎蜕皮腺的形态和结构*

陈长琨 王荫长 韩振华 尤子平
（南京农业大学植保系，南京 210014）

摘要 用电镜和光镜以及组织化学方法研究了小地老虎（*Agrotis ypsilon*）幼虫蜕皮腺的形态与结构，及其在5龄—6龄幼虫的蜕皮期和预蛹—蛹的变态期的变化，并对蜕皮腺分泌的蜕皮液进行了组织化学分析。结果表明：(1)幼虫期的蜕皮腺共有15对，其中12对位于胸部1—3节和腹部1—9节的背侧面，其余3对位于前、中、后胸基节窝的外侧，至化蛹30小时后逐渐解体；(2)蜕皮腺的分泌细胞均为"液泡型"，在幼虫每次蜕皮期间出现周期性变化，随着蜕皮过程的结束，细胞由分泌状态进入静止状态，体积逐渐变小，色泽由乳白色趋向透明，液泡变小或消失，内质网数量减少，液泡内含物对 PAS 反应减弱；(3)蜕皮前蜕皮腺分泌细胞的内含物 PAS 强阳性，表明蜕皮液是粘多糖或糖蛋白性质的，它通过导管分泌到新旧表皮层之间。

关键词 小地老虎 蜕皮腺

鳞翅目昆虫的蜕皮腺（moulting gland 简称 MG）是一种皮细胞腺，最初由 Verson (1890) 在家蚕体内发现。全部结构由三个细胞特化而成。小林胜利(1951—1953, 1955)对家蚕幼虫的蜕皮腺作过一系列的组织学研究，并将分泌细胞区分为空泡型、颗粒型与过渡型三种。蜕皮腺的功能虽然早就知道与蜕皮有关，但一直未有明确的结论。赤井弘(1976)认为，在蜕皮早期蜕皮液是由蜕皮腺分泌的，但以后即由皮细胞所替代。但大多数学者（Kramer 等，1985)都认为，蜕皮液是由皮细胞分泌的，而对蜕皮腺的作用并未引起足够的重视。本文以小地老虎（*Agrotis ypsilon*）为材料，以粘虫（*Mythimna separata*）和棉铃虫（*Heliothis armigera*）为对比材料，用光镜和电镜观察了5龄—6龄幼虫蜕皮期和预蛹—蛹变态期的组织学和细胞学变化，并进行了组织化学分析，期望有助于了解蜕皮腺的功能。

材 料 与 方 法

一、试虫的饲养

采集小地老虎和粘虫越冬代蛾在笼内交配产卵。幼虫在18—25℃下饲养，5龄以前的小地老虎幼虫用三叶草喂养，粘虫用玉米叶喂养，至6龄均用半人工饲料分别饲养。棉铃虫全部用半人工饲料饲养。

二、蜕皮腺的解剖

将5龄末和6龄初的幼虫或预蛹，置于生理盐水中，沿背中线剪开(解剖蛹时，则沿腹中线剪开)取出消化道，在气门与背中线之间沿体壁前端肌腱将内层及中层肌肉剪断拉向后端，再用镊子在气门上3/4节背斜肌的前端拔开脂肪体，找到蜕皮腺，再除去连在蜕皮

本文于1990年1月收到。
* 国家自然科学基金资助项目。
电镜照片由朱荣生先生拍摄，特此感谢。

腺上的脂肪体和其它组织，可清晰地见到蜕皮腺，或摘取待用。

三、糖类和 DNA 的染色

将蜕皮腺置于滴有生理盐水的载玻片上，用 Carnoy 氏液固定 10 分钟，糖类用高碘酸席夫氏试剂染色（PAS 反应）。DNA 用孚尔根法染色（芮菊生，1984）。

四、光镜观察

将供试材料用 Bouin 氏液固定，用酒精逐级脱水，二甲苯透明，石蜡包埋。切片厚度约 5—7 微米。苏木精-伊红双染。显微镜观察并摄影。

五、电镜观察

试虫经活体解剖，取出的蜕皮腺在 2% 戊二醛和 1% 锇酸中双固定，用 Epon-812 包埋，超薄切片厚度 50 纳米，再用柠檬酸铅和醋酸铀染色后，在 JEM-100II 型透射电镜下观察和摄影。

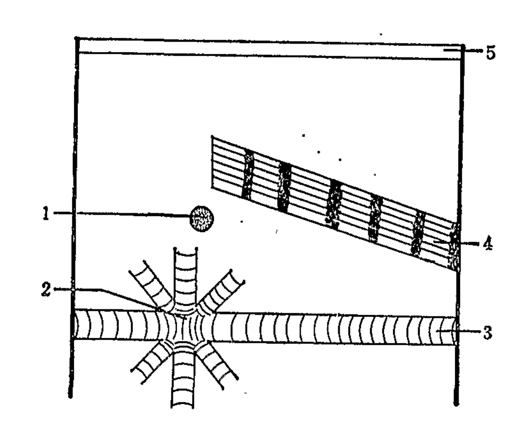


图 1 蜕皮腺着生位置（腹部 1—8 节内面观）
1.蜕皮腺 2.气管丛 3.气管侧纵干 4.3/4 节背斜肌 5.背血管

结果与分析

一、基本结构

小地老虎幼虫体内有蜕皮腺 15 对。其中 12 对分别位于胸部第 1—3 节和腹部 1—9 节的背血管两侧，而后胸和腹部 1—8 节的蜕皮腺都较有规则地排列在各节气门和 3/4 节背斜肌之间（图 1），但在前胸、中胸和第 9 腹节的位置略有差异。其余 3 对分别位于前、中、后胸部基节窝的外侧，在 5 龄和 6 龄初幼虫体内较易观察到，而预蛹期未发现。从横切面可以看出，蜕皮腺是突入血腔的皮细胞腺，有一个大型的分泌细胞（图版 I:1、2）和几个与皮细胞相连的小型导管细胞，围成导管（图版 I:7），基部附有肌肉，腺体外围有一层非细胞性围膜。腺体的形状、大小及内部结构，随蜕皮和变态而呈周期性变化。

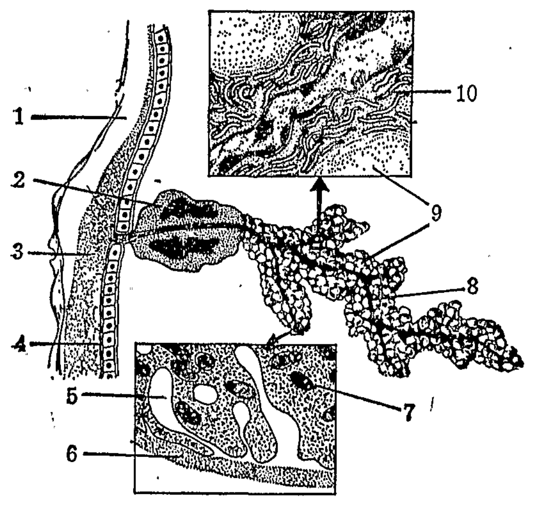


图 2 小地老虎预蛹的蜕皮腺（纵切）及分泌细胞的细微结构
1.旧表皮 2.导管细胞 3.蜕皮液 4.新表皮 5.细胞内褶 6.围膜 7.线粒体 8.分枝状细胞核 9.液泡 10.粗面内质网

二、蜕皮前的特征

蜕皮腺在每次蜕皮前皮层溶离时开始增大，并随着龄期的增长，逐渐扩大，至 5 龄末期，呈椭圆形，平均直径为 372 微米，至预蛹期扩大成扁平皱缩囊状，直径增大至 910 微米，边缘折叠呈波纹状，乳白色，切面呈曲带

状。

蜕皮前的细胞核嗜碱性,孚尔根反应表明,核内大量 DNA 呈线条状分布,整个核形成网络状,一部分 DNA 在细胞边缘聚集成团。细胞质内含有大量嗜酸性的大液泡,通过 PAS 反应,表明有丰富的多糖物质存在。此时所有蜕皮腺均属“液泡型”(图版 I:1、2,表 1)。电镜观察表明,在液泡内有密集的微粒,液泡间充满粗面内质网,尤其在 5 龄末期,排列非常致密。细胞膜上有很多内褶,内侧有众多的圆形或椭圆形的线粒体(图版 I:3、5、6,表 2)。

表 1 小地老虎蜕皮前后蜕皮腺分泌细胞的解剖形态比较

虫态 \ 项目		腺体直径(微米)*		形 状	色泽	细胞质** PAS 反应	细胞核 DNA 的 F 反应特征
		波动范围	平均				
蜕皮前	5 龄末幼虫	321—407	372	椭圆形,边缘略向一侧折叠	乳白	+++	多为细线状
	预蛹	656—1070	910	扁平结缩囊状,边缘折叠呈波纹状	乳白	+++	同上
蜕皮后	6 龄初幼虫	257—407	316	扁圆形,边缘无折叠	无色透明	++	多为颗粒状
	蛹(5 时龄)	535—856	656	同预蛹	无色透明	++	同上
	蛹(30时龄)	—	630	极扁,无形,周缘无折叠	无色透明	+	—
	蛹(30时龄)	—	—	无形,仅剩围膜	透亮	—	—

* 背面 1—7 对蜕皮腺的直径。

** PAS 阳性颗粒占蜕皮腺分泌细胞的体积,大于 $\frac{3}{4}$ 为“+++”; $\frac{1}{2}$—$\frac{1}{3}$ 之间为“++”;小于 $\frac{1}{4}$ 为“+”。

表 2 小地老虎蜕皮前后蜕皮腺分泌细胞结构比较

虫 态 \ 项 目		横切面(光镜)			细胞器(电镜)		
		形状	细胞质	核	液泡	粗面内质网	细胞膜及线粒体
蜕皮前	5 龄末幼虫	椭圆	液泡多而大	分枝较大	大而均匀充满微粒	密集于液泡之间	多内褶,线粒体多集在围膜下
	预蛹	曲带状	液泡多而大	高度分枝	同上	同上	同上
蜕皮后	6 龄初幼虫	椭圆	液泡小而密集	分枝短	小而密集,内含物极少或无	极少	向内收缩,线粒体仍集聚在围膜下
	蛹(5 时龄)	曲带状	液泡无形	不明显	同上	同上	同上

从切片中可以看到,在皮层溶离时,蜕皮腺通过导管将分泌物排入新旧表皮之间的孔隙(图版 I:7)。分泌物经组织化学测定,呈 PAS 阳性和嗜酸性,表明含有多糖和蛋白质性质的物质,可能属于粘多糖或糖蛋白类物质。

综上所述，小地老虎幼虫蜕皮前的蜕皮腺处于分泌状态，典型的结构特征如图2所示。

三、脱皮后的变化

蜕皮腺在幼虫蜕皮或化蛹以后，体积较脱皮前明显缩小，预蛹期尤为明显，化蛹前平均直径为910微米，化蛹脱皮后缩小到656微米，仅是脱皮前的60%。细胞由脱皮前的乳白色转变为无色透明，此时内含物大多已经外排，PAS阳性反应减弱，颗粒变小，结构不清晰。细胞核的孚尔根反应表明，细胞边缘的DNA由细线状局部纠集成颗粒状。

光镜观察表明，由于蜕皮液的外排，多数液泡缩小甚至消失，失去"液泡型"的特征。在幼虫5龄—6龄和6龄—蛹蜕皮前后变化均较明显(图版 I:8，表1)。

电镜观察表明，这时液泡内的内含物已经排空，无微粒存在，很多缩小的空液泡开始合并；液泡间粗面内质网减少，细胞膜的内褶消失，围膜收缩而发生凹陷。虽然仍可见到不少线粒体，但形状不规则，而且内中出现大小不一的空泡；表明衰退的现象(图版 I:4，表2)，总的特征与"颗粒型"相似。

四、蛹期蜕皮腺的消退

化蛹5小时后的蜕皮腺外形与预蛹期的相似，但因蜕皮液的外排而变成无色透明，PAS反应减弱；至化蛹20小时后，蜕皮腺明显缩小，由皱缩囊状变得扁平，PAS反应进一步减弱；至化蛹后30小时，腺体开始萎缩，形成空泡，仅剩一层极薄的围膜，PAS反应变成阴性，这时蛹的皮层已经溶离；至化蛹后4天，预成虫已有较多鳞片出现，蜕皮腺开始消失。

研究还表明，粘虫和棉铃虫幼虫5龄末期和预蛹期的蜕皮腺结构和脱皮前后的形态变化与小地老虎的基本相似。可见这三种幼虫的蜕皮腺以及在脱皮前后的动态变化在夜蛾科中有一定的代表性。

讨　　论

小林曾报道，家蚕幼虫（*Bombyx mori*）蜕皮腺的分泌细胞有空泡型、颗粒型及过渡型三类，不同部位的蜕皮腺所属类型也不相同，认为前部很多体节的属空泡型，后部3节的属颗粒型。作者通过详细观察三种夜蛾科昆虫的蜕皮腺可见，各体节中蜕皮腺的形态特征并无不同之处，在蜕皮前与家蚕幼虫蜕皮腺的空泡型很相似，而蜕皮后的形态则相当于颗粒型，因此不同部位蜕皮腺的形态差异，可能是其在周期性变化过程中的不同阶段而已，其中必然含有过渡类型出现。但家蚕蛾科与夜蛾科之间究竟有多大差异，由于缺乏比较研究，尚难做出确实的判断。

赤井弘(1976)曾对蜕皮腺的功能作了扼要的介绍，认为在蜕皮过程的早期主要分泌蜕皮液。Jungreis（1978、1979）在研究惜古比天蚕蛾（*Hyalophora cecropia*）及烟草天蛾（*Manduca sexta*）的蜕皮液时，明确认定蜕皮液是由皮细胞分泌的，这种蜕皮液与旧内表皮的消化吸收有关。Wigglesworth（1972）认为蜕皮液具有多种功能，除消化旧内表皮和运载消化产物之外，还有一个功能是作为脱去旧外表皮时的润滑剂。作者从三种夜蛾科昆虫的蜕皮腺特征与蜕皮腺性质的研究结果认为，蜕皮腺分泌的蜕皮液从分布部位和出现时间来看，主要是使体躯各部位的表皮层与皮细胞层出现皮层溶离，以及作为

湿润剂，帮助幼虫或蛹从外表皮中脱离出来，尤其是位于气门附近的蜕皮腺，对旧气管表皮从新气管中脱出有特别重要作用。另外当蛹羽化时，由于成虫从蛹壳中出壳时不再需要润滑剂(变态时的气管除外)，因此幼虫化蛹以后，皮层溶离不久蜕皮腺即消退(此时气门附近的蜕皮液即已渗入新旧气管之间)。这一情况说明了预成虫蜕皮的特殊性，以致出现蜕皮腺的最后消退早于成虫羽化期。

从蜕皮腺的周期性变化还可看出，它与皮层溶离有非常密切的关系，而且本身呈现周期性的形态学、组织学和细胞学变化，显然受到蜕皮激素或促前胸腺激素的激动或调控，如果进一步能得到证实，就有可能作为激素作用的靶组织，有希望通过离体培养用于激素的滴度测定，必然会比昆虫整体生测法具有更高的灵敏度。

参 考 文 献

芮菊生 1980 组织化学染色法。人民教育出版社。第 213—223 页。

小林胜利 1951—1955 家蚕蜕皮腺の细胞组织学の研究 (I—V)。日蚕杂 **20:** 226—231 (1951a); **20:** 357—65 (1951b); **21:** 283—8 (1952); **22:** 211—51 (1953); **24:** 383—8 (1955)。

赤井弘 1976 昆虫超微形态学。p. 28。

Jungreis, A. M. 1978 The composition of laval-pupal moulting fluid in the tabacco hornworm, *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.* **24:**65—73.

Jungreis, A. M. 1979 Physiology of moulting in insects. IN "Advance In Insect Physiology". **14:**49—109.

Kramer, K. J. et al. 1985 Chitin metabolism in insects. In "Comprehensive Insect Physiology, biochemistry and Pharmacology" Vol.3:pp 75—107.

Wigglesworth, V. B. 1972 The Principles of Insect Physiology. pp 27—53.

MORPHOLOGY AND STRUCTURE OF MOULTING GLANDS IN THE BLACK CUTWORM *AGROTIS YPSILON*

CHENG CHANG-KUN WANG YIN-CHANG HAN ZHEN-HUA YOU ZI-PING

(Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014)

The morphology and structure of moulting glands in the black cutworm *Agrotis ypsilon* were studied with light and electron microscopes. Attention has been paid on their histological and cytological changes in larvae from fifth to sixth instar, prepupae to pupae, and pupae to eclosion. The results are summarized as follows:

1. There are 15 pairs of moulting glands in the larva, of which 12 pairs are located in the dorso-pleural regions from prothorax to ninth abdominal segment, and 3 pairs are located latero-ventrally just next to the coxal cavities of the three thoracic segments. These glands all begin to degenerate at 30 hours after pupation.

2. The secretory cells of the moulting glands all belong to the vesicular type. They undergo periodic changes during moult as follows: decrease of cell size→loss of the opalescent color→emptiness of the vesicles→marked decrease of rough endoplasmic reticula→weakening of PAS reaction of cell contents.

3. It was also observed that the gland's contents were secreted into the space between the old and new cuticular layers and showed sugar-protein property. It is possible that the secretion has a lubriant action for ecdysis.

Key words *Agrotis ypsilon*——moulting gland